



## Nagoya City University Academic Repository

学位の種類	博士（医学）
報告番号	甲第1462号
学位記番号	第1048号
氏名	飯尾 悦子
授与年月日	平成 27 年 3 月 25 日
学位論文の題名	<p>Genome-wide association study identifies a <i>PSMD3</i> variant associated with neutropenia in interferon-based therapy for chronic hepatitis C</p> <p>（ゲノムワイド関連解析による、C型慢性肝炎患者におけるインターフェロン治療中の好中球減少を規定する PSMD3 遺伝子多型の同定）</p> <p>Human Genetics: in press</p>
論文審査担当者	<p>主査： 田中 靖人</p> <p>副査： 大原 弘隆, 城 卓志</p>

## 論 文 内 容 の 要 旨

【背景・目的】近年、約90万か所のsingle nucleotide polymorphism (SNP) を一括タイピングすることにより全ゲノムを網羅的に解析するゲノムワイド関連解析法genome-wide association study (GWAS) が可能となり、これまでにウイルス性肝炎の領域でも成果が報告されている。すなわち、C型慢性肝炎に対するペグインターフェロン (PEG-IFN) ・リバビリン(RBV)併用療法における治療効果に関与する *IL28B* 遺伝子多型 (SNP)、貧血に関する *ITPA* SNP や血小板減少に関する *DDRKG1* SNPなどが報告され、すでに臨床応用されている。また、副作用としての好中球減少は時に重篤であり、薬剤減量や中止を余儀なくされ、その結果治療効果 sustained viral response (SVR) の低下をきたす。今回我々はGWASの手法を用いて、C型慢性肝疾患患者におけるIFN治療中の好中球減少を規定する遺伝子多型の同定を目的とした。

【方法】2007年から2012年に、全国22施設へ通院中であったC型慢性肝疾患患者416例においてPEG-IFN/RBV併用療法中に好中球減少をきたした114例と好中球非減少例302例に対してAffymetrix Genome-Wide Human SNP Array 6.0を用いてGWASを行った。さらに独立した404例のコホート(好中球減少50例と非減少例の354例)において、DigTag2法を用いてreplication解析を行った。好中球減少(Case)群は、GWAS第1ステージでは治療開始2週目または4週目で好中球数750/mm<sup>3</sup>未満、また第2ステージとreplication解析では600/mm<sup>3</sup>未満とし、Control群は2週目、4週目ともに好中球数1000/mm<sup>3</sup>以上とした。

【結果】GWASの2つのステージの解析はAffymetrix Genome-Wide Human SNP Array 6.0を用いてSNPタイピングを行い、第1ステージから第2ステージにおいて関連性が強くなったSNPsを合計192個選択した。別の404例の日本人HCV患者コホート(Case 50例とControl 354例)でreplication解析を行い、GWASとreplication解析を合わせた結果、第17番染色体に存在するproteasome 26S subunits non-ATPase 3(PSMD3)遺伝子のイントロンに位置するrs2305482のSNPがIFN治療中の好中球減少発症に関連することを発見した(OR=2.18; 95%CI=1.61-2.96、 $P=3.05 \times 10^{-7}$ )。多変量解析において、rs2305482 CCアリルと治療開始時の好中球数はIFN誘導性好中球減少の有意な独立予測因子であった(OR=2.497、 $p=0.0072$ 、OR=0.998、 $p<0.0001$ )。rs2305482遺伝子型はPEG-IFN/RBV併用療法におけるPEG-IFN投与量と関連を認めたが、治療効果との関連は認めなかった。この好中球減少に関連するrs2305482 SNPが *PSMD3* や *CSF3* の遺伝子発現量に影響を有しているか調べるためにeQTL解析を行ったところ、好中球減少のリスクアリルであるrs2305482 Cアリルは人種によっては *PSMD3* の高発現と関連を認めた一方で、*CSF3* の低発現と関連を認めた人種も存在した。さらに、IFN治療を施行した127例において血清G-CSFとnadir時の好中球との関係について検討したが、治療開始前と好中球nadir時の血清G-CSF変化率とrs2305482、rs4794822遺伝子多型との関係は認めなかった。

【結語・考察】C型慢性肝炎患者に対するIFN治療による好中球減少に関連する*PSMD3*遺伝子多型を同定した。*PSMD3*遺伝子多型は悪性疾患の化学療法中の好中球減少にも関与している可能性があり、今回の知見は副作用予測に基づいた個別化治療に貢献することが期待される。

## 論文審査の結果の要旨

【背景・目的】近年、約90万か所のsingle nucleotide polymorphism (SNP) を網羅的に解析する genome-wide association study (GWAS) により、C型慢性肝炎に対するペグインターフェロン (PEG-IFN) ・リバビリン (RBV) 併用療法における治療効果に関与する *IL28B* 遺伝子多型 (SNP)、貧血に関係する *ITPA* SNP や血小板減少に関係する *DDRGK1* SNP などが報告され、臨床応用されている。今回我々はGWASの手法を用いて、PEG-IFNによる好中球減少に関連する遺伝要因を探索した。

【方法】2007年から2012年に、全国22施設へ通院中であったC型慢性肝疾患患者416例においてPEG-IFN/RBV併用療法中に好中球減少をきたした114例と好中球非減少例302例に対してAffymetrix Genome-Wide Human SNP Array 6.0を用いてGWASを行った。さらに独立した404例のコホート（好中球減少50例と非減少例の354例）において、DigiTag2法を用いてreplication解析を行った。好中球減少 (Case) 群は、GWAS第1ステージでは治療開始2週目または4週目で好中球数 $750/\text{mm}^3$ 未満、また第2ステージでは $600/\text{mm}^3$ 未満とし、Control群は2週目、4週目ともに好中球数 $1000/\text{mm}^3$ 以上とした。

【結果】GWASの2つのステージの解析はAffymetrix Genome-Wide Human SNP Array 6.0を用いてSNPタイプピングを行い、第1ステージから第2ステージにおいて関連性が強くなったSNPsを合計192個選択した。別の404例の日本人HCV患者コホート (Case 50例とControl 354例) でreplication解析を行い、第17番染色体に存在するproteasome 26S subunits non-ATPase 3 (PSMD3) 遺伝子のイントロンに位置するrs2305482のSNPがIFN治療中の好中球減少発症に関連することを発見した ( $OR=2.18$  ; 95%  $CI=1.61-2.96$ 、 $P=3.05 \times 10^{-7}$ )。多変量解析において、rs2305482 CCアリルと治療開始時の好中球数はIFN誘導性好中球減少の有意な独立予測因子であった ( $OR=2.497$ )。rs2305482遺伝子型はPEG-IFN/RBV併用療法におけるPEG-IFN投与量と関連を認めたが、治療効果との関連は認めなかった。eQTL解析の結果、好中球減少のリスクアリルであるrs2305482 Cアリルは人種によってはPSMD3高発現と関連した。IFN治療を施行した127例において血清G-CSFとnadir時の好中球との関係について検討したが、治療開始前と好中球nadir時の血清G-CSF変化率とrs2305482、rs4794822遺伝子多型との関係は認めなかった。【結語・考察】C型慢性肝炎患者に対するIFN治療による好中球減少に関連するPSMD3遺伝子多型を同定した。今回の知見は副作用予測に基づいた個別化治療に貢献することが期待される。

審査委員会では、主査の田中より「今回 GWAS に用いたプラットフォームについて」、「case 群の好中球数のカットオフの設定理由」、「PSMD3 遺伝子の発現や機能について」など論文の方法と結果に関する 10 項目の質問、第一副査（大原弘隆教授）より「副作用に関連する遺伝子多型はどこまで臨床応用されているか」、「PSMD3 遺伝子多型が PEG-IFN 投与量と関連するものの、治療効果と関連を認めなかった理由について」など研究成果と臨床との関係に関して 6 項目の質問があった。また指導教授である第二副査（城卓志教授）より「サンプルの収集方法」や「PSMD 遺伝子のユビキチン-プロテアソーム系との関連」など研究結果に関する質問とともに、「肝臓癌の治療について」などの主科目を中心とした質問があったが、いずれも良好な回答が得られ、本論文について十分に理解するとともに、専攻分野（肝臓病学）に関する知識を習得しているものと判断された。本研究の結果より、C 型慢性肝炎患者に対する PEG-IFN 治療による好中球減少に関連する PSMD3 遺伝子多型が同定され、副作用予測に基づく個別化治療に貢献することが期待され、臨床的にも意義のある研究と考えられた。よって本論文の著者には博士（医学）の学位を授与するに値すると判断した。

論文審査担当者 主査 田中靖人

副査 大原弘隆、城卓志